

по Григорьеву с желчегонной нагрузкой, при помощи которого оценивались функция сфинктера Одди и проходимость терминального отдела холедоха, а также метода импедансометрии большого дуоденального сосочка с целью определения в нем морфологических и органических изменений.

Ключевые слова: постхолецистэктомический синдром, функциональные и органические изменения большого дуоденального сосочка, проходимость терминального отдела холедоха, лечебная тактика.

WAYS TO IMPROVE DIAGNOSIS OF PATIENTS WITH POSTCHOLECYSTECTOMY SYNDROME

M. M. VELIGOTSKY, O. V. GORBULITCH, S. H. YEFIMENKO, S. A. PAVLYCHENKO,
O. A. LAZUTKINA, K. A. ALEKSANIAN

The results on improving the algorithm for diagnosing patients with postcholecystectomy syndrome have been analyzed. The use of the Grigoriev ultrasound method with choleretic loading, which evaluated the sphincter of Oddi function and patency of terminal choledochus, as well as the impedancemetry of the major duodenal papilla to determine its morphological and organic changes.

Key words: postcholecystectomy syndrome, functional and organic changes of major duodenal papilla, patency of the terminal choledochus, treatment tactics.

Надійшла 13.11.2020

УДК 616.127-005.8-091-08:576.3:615.361]:612.015.11

<https://doi.org/10.37436/2308-5274-2021-1-7>

ВПЛИВ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН НА ЕФЕКТИВНІСТЬ АНГІОГЕНЕЗУ, СТАН СУДИННОГО ТОНУСУ, ІНТЕНСИВНІСТЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ І МЕТАБОЛІЧНУ АКТИВНІСТЬ КАРДІОМІОЦИТІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ІНФАРКТІ МІОКАРДА

Канд. мед. наук С. І. ЕСТРИН^{1,2}, канд. мед. наук Т. В. КРАВЧЕНКО¹,
А. О. КОВАЛЬЧУК¹, Є. С. АКОБІРОВ¹

¹ ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії імені В. Т. Зайцева НАМН України», Харків, Україна,

² ДУ «Інститут невідкладної та відновної хірургії імені В. К. Гусака НАМН України», Київ, Україна

Подано результати експериментального дослідження ефективності лікування гострого інфаркту міокарда шляхом кардіоміопластики: внутрішньовенного, інтракоронарного та інтраміокардіального введення аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку. Установлено покращення метаболізму кардіоміоцитів за рахунок нормалізації балансу між інтенсивністю вільнорадикального окислення і антиоксидантного захисту.

Ключові слова: кардіоміопластика, мезенхімальні стовбурові клітини, інфаркт міокарда, міокардіальний метаболізм.

Ішемічна хвороба серця (ІХС) посідає перше місце серед серцево-судинних захворювань за частотою ускладнень і кількістю летальних наслідків. У США вона є причиною кожної п'ятої смерті [1]. В Україні діагноз ІХС установлюють приблизно 400 тис. пацієнтам щороку [2, 3]. На теперішній час існують традиційні методи лікування цієї ка-

тегорії пацієнтів: медикаментозна терапія, пряма реваскуляризація міокарда (аортокоронарне шунтування — АКШ або ангіопластика зі стентуванням), а також трансплантація серця. Але медикаментозна терапія зазвичай є недостатньо ефективною у запобіганні процесам ремоделювання міокарда [4, 5].

Серцева недостатність (СН), спричинена ІХС або кардіоміопатіями, є одним із найтяжчих захворювань із поганим прогнозом. Незважаючи на великий арсенал медикаментозних препаратів і хірургічних видів інтервенції, нині залишається значна кількість хворих на стенокардію, у яких хірургічне втручання з різних причин неможливе, а медикаментозна терапія малоєфективна [6, 7].

Уперше визначення рефрактерної стенокардії (РС) було запропоновано у 2002 р. об'єднаною групою Європейського товариства кардіологів із лікування РС: це хронічний стан, що триває понад 3 міс і характеризується наявністю стенокардії, причиною якої є недостатність коронарного кровообігу (на тлі ураження коронарних артерій). Він супроводжується тяжкими клінічними симптомами, які не вдається контролювати комбінованою медикаментозною терапією в максимально переносимих дозах за неможливості виконати ревазкуляризацію міокарда (черезшкірну коронарну ангіопластику — АКШ) [8, 9].

РС слід відрізнити від гострого коронарного синдрому, який включає нестабільну стенокардію та інфаркт міокарда (ІМ). Диференціація РС від незворотного некрозу, тобто ІМ, проводиться на підставі серійної реєстрації ЕКГ і визначення сироваткових маркерів пошкодження міокарда, включаючи ізоформи креатинфосфокінази (КФК-МВ) та кардіальний тропонін (І або Т).

Сучасні дослідження у галузі біології стовбурової клітини кардинально змінили всі уявлення про регенеративні здатності міокарда та стали початком нового терапевтичного напрямку — клітинної кардіоміопластики, яка спрямована на заміщення пошкоджених кардіоміоцитів шляхом імплантації аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин (МСК) кісткового мозку (КМ) [10–14].

На теперішній час трансплантацію МСК КМ багато фахівців розглядають як потенційно перспективну терапію для пацієнтів із хронічною ІХС. Однак масштабних досліджень щодо оцінки ефективності імплантації МСК КМ у пацієнтів із СН досі не проводилось [15].

Багато фундаментальних питань клітинної терапії залишаються відкритими: механізми хомінгу, диференціювання й приживлення трансплантованих МСК, роль клітинного злиття і механізми впливу трансплантованих клітин на функцію та метаболізм серцевого м'яза. Залишається також пред-

метом дискусії найбільш ефективний спосіб доставки клітин у міокард, час проведення кардіоміопластики, кількість клітин у трансплантаті та способи його підготовки, хоча дослідженню цих питань присвячено багато робіт [16]. Механізми, що лежать в основі регенеративного потенціалу МСК, до кінця не з'ясовані й вимагають подальшого вивчення.

Нами проведено експеримент на 142 щурах лінії Вістар-Кайота вагою 200–220 г, які перебували в умовах віварію відділу експериментальної хірургії ДУ «Інститут невідкладної і відновної хірургії імені В. К. Гусака НАМН України» (м. Київ). Порода Вістар-Кайота є інбредною, тому мінімізує реакцію відторгнення завдяки її генетичній однорідності.

Тварини утримувались у віварії в умовах 12-годинного світлового дня, кімнатної температури і доступу до води та їжі *ad libitum* при температурі повітря $+20 - +22^{\circ}\text{C}$, вологості не більше 50%, у світловому режимі день-ніч. Використання тварин в експерименті відбувалося відповідно до правил, регламентованих Європейською конвенцією з нагляду і захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986), Директиви Ради Європейської Співдружності від 24.11.1986 р. та розпорядження МОЗ України від 22.02.1988. № 32. Оперативні втручання у щурів виконували в умовах експериментальної операційної під кетаміновим наркозом (12,5 мг/100 г маси тіла внутрішньом'язово).

Індукцію ІМ здійснювали за розробленою нами методикою в умовах загального знеболення. У положенні тварини на спині виконували стернотомію, перикардіотомію, після чого прошивали і перев'язували передню міжшлуночкову артерію. Стернотомну рану ушивали пошарово. Під час операції температура тіла тварин підтримувалася на рівні $37,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ за рахунок зовнішнього джерела тепла. У перші години після моделювання патологічного стану 22 тварини померли внаслідок розвитку життєзагрожуючих аритмій. Таким чином, експериментальне дослідження проводилося на 120 тваринах, яких було розділено на шість груп (по 20 у кожній серії). У п'ять груп дослідження увійшли самиці (по 20 особин у кожній серії) (рис. 1).

Тварин виводили з експерименту через 1, 6, 24 год, 7 і 30 діб після моделювання патологічно-



Рис. 1. Дизайн експериментального дослідження

го стану шляхом декапітації (в умовах загального знеболення).

Окрему групу становили 20 самців, яких ми використовували як донорів МСК задля подальшого дослідження хомінгу клітин в організмі за Y-хромосоною. З п'яти груп у 1-й не проводили лікування, у 2-й виконували «порожні» ін'єкції в міокард у зоні ішемії, які визначали макроскопічно, у 3-й — ін'єкції МСК безпосередньо в міокард у дозі 10 млн клітин, у 4-й МСК вводили внутрішньовенно в такій самій дозі шляхом пункції хвостової вени, у 5-й МСК вводили в порожнину лівого шлуночка (ЛШ) шляхом пункції і проведення катетера крізь праву стегнову артерію (таким чином намагалися створити максимальну концентрацію МСК у вічках коронарних артерій).

МСК отримували з КМ тварин із додаванням 625 Од/мл гепарину («Дарниця», Україна). Культивування МСК проводили в суміші живильних середовищ DMEM/F12, 1:1 (Sigma, США) з додаванням 10% ембріональної телячої сироватки («Біолот», Росія); 0,75 мг/мл глютаміну (Інститут поліомієліту та вірусних енцефалітів, Росія); 2 нг/мл основного фактора росту фібробластів (Sigma, США) і по 100 Од/мл пеніциліну і стрептоміцину («Дарниця», Україна) в CO₂-інкубаторі (Joan, Франція) за температури 37 °C і 5% атмосфери CO₂. Зміну середовища проводили кожні 3–4 доби культивування. Первинного моношару культури досягали на 8–11-ту добу культивування залежно від щільності засіву первинно виділеної клітинної суспензії, індивідуальних особливостей донорів та рівня проліферативної активності клітин. Пасирування виконували з використанням суміші розчинів трипсину/ЕДТА («Біолот», Росія) у співвідношенні 0,05% : 0,02% у фосфатно-сольовому буфері (ФСБ), рН 7,4 (Sigma, США). Коефіцієнт пасирування становив 1 : 2 або 1 : 3. Після цього клітини культивували в CO₂-інкубаторі за тих самих умов. У результаті таких маніпуляцій отримували некомітовану клітинну культуру МСК.

У динаміці у лабораторних тварин вивчали маркери неангіогенезу в сироватці крові. Вміст оксиду азоту (NO) у плазмі крові оцінювали за кількістю стабільних кінцевих метаболітів NO, а саме — NO₂⁻ + NO₃⁻ (UNOX). Концентрацію фактора росту ендотелію судин (VEGF) вимірювали на дволазерному проточному флуоресцентному аналізаторі Luminex (Luminex Corporation, США) з використанням наборів реагентів Simplex ProcartaPlex™ (Affymetrix, США). Рівень ендотеліну-1 у плазмі крові визначали імуноферментним методом із використанням набору Endotelin (1–21) (Biomedica, Австрія) на імуноферментному аналізаторі Stat Fax 2100.

Перекисне окислення ліпідів (ПОЛ) оцінювали за рівнями гаптоглобіну, церулоплазміну та ТБК(тіобарбітурова кислота)-активних продуктів. Концентрацію гаптоглобіну (Hr) у сироватці крові встановлювали імуноурбідиметричним методом (реактиви SENTINEL CH, Італія).

Рівень церулоплазміну оцінювали модифікованим методом Равіна за здатністю окислювати р-фенілендамін. Вміст ТБК-продуктів (малоновий діальдегід (МД)) у сироватці крові вивчали за методом М. Mihara (1980)).

Як маркери метаболічної активності міокарда були обрані креатинінкіназа (МВ-КК), аспаргатамінотрансфераза (АсТ) і лактатдегідрогеназа (ЛДГ). Активність ЛДГ досліджували за допомогою набору для визначення пірувату (Hoffmann-La Roche Ltd., Швейцарія) на біохімічному аналізаторі A25 (BioSystems, Іспанія). МВ-КК у сироватці крові визначали колориметричним методом із використанням креатинфосфату як субстрату при довжині хвиль 334, 340, 365 нм. Рівень АсТ у сироватці крові встановлювали на біохімічному аналізаторі Express Plus (Ciba Corning, Велика Британія) відповідно до рекомендацій IFCC (Міжнародної федерації клінічної хімії).

Терміни дослідження: через 1, 6, 24 год після індукції патологічного стану і лікування, а також на 7-му і 30-ту добу дослідження.

Статистичну обробку результатів експериментального дослідження проводили на комп'ютері Pentium V Core Duo 2 за допомогою ліцензійного пакета програм Microsoft Excel 2010, Statistica 6.0.

При вивченні рівнів вазоконстриктора ендотеліну-1, вазодилатора NO і ендотеліального фактора росту судин у динаміці протягом місяця після моделювання ІМ було відзначено загальну закономірність для всіх трьох показників: вони досягали максимального значення наприкінці 1-ї доби після моделювання ІМ.

Так, через 1 год після моделювання ІМ концентрація NO зростала від 0,58±0,03 до 0,86±0,04 мкг/мл, подібні зміни спостерігалися і в групі ІМ + трансплантація МСК (рис. 2). У подальшому через 6 год у групі з ІМ вміст NO збільшувався до 0,92±0,03 мкг/мл, досягав

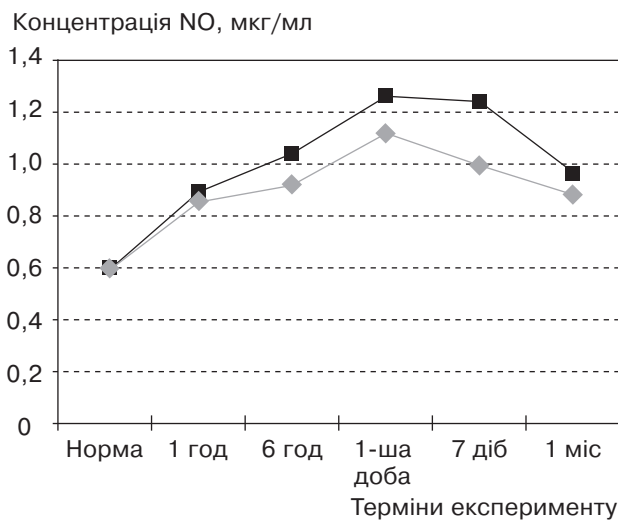


Рис. 2. Динаміка концентрації оксиду азоту у різні терміни експерименту: —◆— ІМ, —■— ІМ + МСК. Те саме на рис. 3, 4

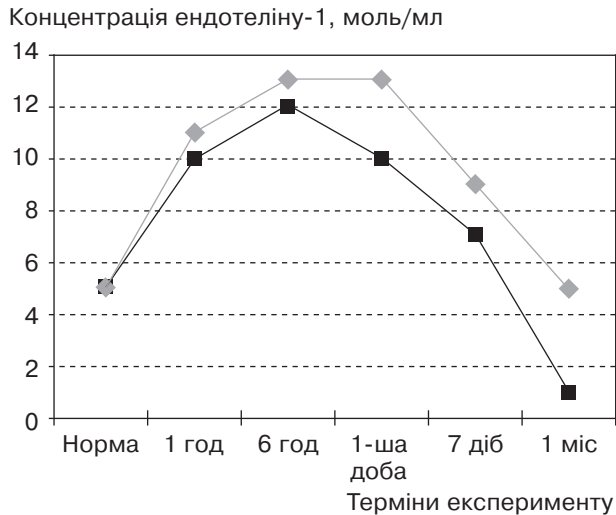


Рис. 3. Динаміка концентрації ендотеліну-1 у різних термінах експерименту

максимального значення до кінця 1-ї доби і становив $1,12 \pm 0,05$ мкг/мл. На 7-му добу після моделювання ІМ рівень NO знижувався, і ця тенденція зберігалася до кінця дослідження, коли рівень вазодилатора досягав $0,88 \pm 0,03$ мкг/мл, що достовірно перевищувало нормальні значення. У групі ІМ + трансплантація МСК максимальний пік концентрації NO також припадав на 1-шу добу і досягав $1,26 \pm 0,03$ мкг/мл. Надалі концентрація NO продовжувала знижуватися. Через місяць після моделювання ІМ рівень NO дорівнював $0,96 \pm 0,05$ мкг/мл і достовірно перевищував нормальні значення. Слід зазначити, що починаючи із 7-ї доби концентрація досліджуваного показника в групі ІМ + внутрішньовенна трансплантація МСК була достовірно вищою, ніж у групі ІМ без лікування ($t = 4,42$; $p < 0,001$). До кінця експерименту показники двох груп статистично не відрізнялися (рис. 2).

При вивченні динаміки концентрації ендотеліну-1 в групі ІМ виявлено його дворазове збільшення порівняно з нормою ($10,6 \pm 0,7$ моль/мл). До кінця 7-ї доби вміст ендотеліну-1 зберігався на високому рівні (рис. 3). Максимального піку ($12,9 \pm 0,4$ моль/мл) цей показник досягав у 1-шу добу, а до кінця експерименту повертався до меж норми. У групі ІМ + внутрішньовенна трансплантація МСК також до кінця 1-ї год після моделювання ІМ відзначалося зростання рівня ендотеліну-1 до $10,4 \pm 0,5$ моль/мл із досягненням максимального піку до кінця 1-ї доби. Починаючи від 1-ї доби рівень досліджуваного показника знизився до $9,1 \pm 0,3$ моль/мл і до кінця 1-го місяця спостереження не відрізнявся від показників здорових тварин. Слід зазначити, що починаючи з 1-ї доби концентрація ендотеліну-1 була значно нижчою в групі ІМ + внутрішньовенна трансплантація МСК порівняно з ІМ без лікування.

При вивченні динаміки концентрації VEGF (рис. 4), який відображає інтенсивність ангіогенезу, було відзначено, що до 6-ї години після ін-

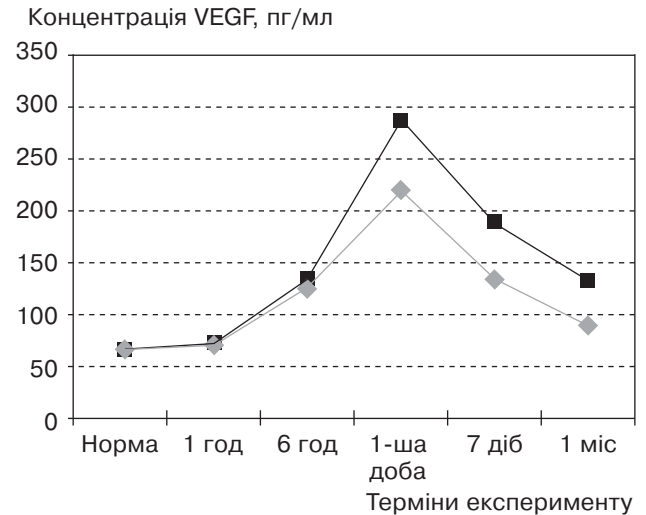


Рис. 4. Динаміка VEGF у різних термінах експерименту

дукції ІМ зазначений показник не відрізнявся від контрольних значень. Через 6 год у групі тварин з ІМ вміст VEGF зростав до $126,72 \pm 24,05$ пг/мл і досягав максимального піку до кінця 1-ї доби – $220,45 \pm 22,13$ пг/мл. До кінця експерименту VEGF знижувався до $89,74 \pm 21,38$ пг/мл, що не відрізнялося від нормальних значень ($t = 0,91$; $p > 0,05$). У групі ІМ + внутрішньовенна трансплантація МСК також до 6-ї години дослідження спостерігали значне підвищення рівня VEGF до $134,86 \pm 28,11$ пг/мл із досягненням його максимуму до кінця 1-ї доби – $288,22 \pm 23,46$ пг/мл. Далі VEGF незначно знижувався і до кінця експерименту становив $132,74 \pm 19,87$ пг/мл, що в удвічі перевищувало нормальні значення ($t = 2,8$; $p < 0,05$). Слід зазначити, що починаючи з 1-ї доби і до кінця спостереження цей показник в групі ІМ + внутрішньовенна трансплантація МСК був вищим, ніж у групі ІМ. Цей факт свідчить про те, що трансплантація МСК стимулює ангіогенез, підсилює експресію VEGF протягом усього періоду спостереження.

При дослідженні концентрацій похідних NO виявлено, що через місяць у тварин в 1-й і 2-й групах відбувалося їх підвищення до $0,88 \pm 0,03$ і $0,85 \pm 0,02$ мкг/мл відповідно ($t = 6, 4$, $p < 0,05$). У 3-й, 4-й і 5-й групах виявлено більш значне підвищення зазначеного показника: $0,99 \pm 0,04$, $0,96 \pm 0,05$ і $0,92 \pm 0,03$ мкг/мл відповідно, при цьому в 3-й групі вміст NO був вищим, ніж у 5-й ($t = 1,99$, $p < 0,05$) (табл. 1).

Подібна тенденція спостерігалася і щодо концентрації VEGF. Так, у 1-й і 2-й групах його рівень не перевищував нормальні значення: $89,74 \pm 21,38$ і $90,11 \pm 15,32$ пг/мл відповідно ($p > 0,05$). Однак у 3, 4 і 5-й групах досліджуваній показник був значно вищим за норму і становив відповідно $144,22 \pm 14,59$, $132,74 \pm 19,87$ і $111,43 \pm 12,22$ пг/мл, причому за аналогією з рівнем NO в 3-й групі відзначався максимальний рівень порівняно з 5-ю ($t = 1,97$, $p < 0,05$).

Таблиця 1

Концентрації маркерів ангиогенезу в сироватці крові щурів через 30 діб після моделювання інфаркту міокарда

Показник	Контроль	Групи тварин				
		1-ша, $n = 20$	2-га, $n = 20$	3-тя, $n = 20$	4-та, $n = 20$	5-та, $n = 20$
NO (мкг/мл)	0,58±0,03	0,88±0,03***	0,85±0,02***	0,99±0,04***	0,96±0,05***	0,92±0,03***
VEGF (пг/мл)	66,98±12,47	89,74±21,38***	88,54±20,15***	132,74±19,87***	134,04±21,18***	129,96±18,55***
Ендотелін-1 (моль/мл)	5,1±0,4	5,9±0,2*	5,8±0,2*	4,9±0,2	5,1±0,2	5,0±0,3

Примітка. При порівнянні з контролем: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Аналіз концентрації ендотеліну-1 показав, що в 3-й, 4-й і 5-й групах через місяць після індукції експерименту рівень досліджуваного показника не відрізнявся від норми, у 1-й і 2-й був дещо вищим за нормальні значення і становив $5,9 \pm 0,2$ і $5,8 \pm 0,2$ моль/мл відповідно.

У ході експериментального дослідження було встановлено, що для ішемізованого міокарда характерними були підвищення анаеробного обміну і гіпоксичний тип метаболізму. Однак навіть максимально посилений метаболізм не здатний тривалий час захищати вже пошкоджений міокард. Гіпоксія закономірно викликає активацію процесів ПОЛ. Так, при моделюванні ІМ відбувалося накопичення ТБК-активних продуктів (табл. 2) від $1,09 \pm 0,1$ до $2,81 \pm 0,8$ мкмоль/л ($t = 2,13$, $p < 0,05$). У групі тварин із трансплантацією МСК цей показник дорівнював $1,74 \pm 0,5$ мкмоль/л, що достовірно не відрізнялося від значень, отриманих у здорових тварин ($t = 1,11$, $p > 0,05$). За абсолютним приростом зазначений показник був на $1,2$ мкмоль/л нижчий, ніж при ІМ, але вищий норми, що свідчило про мінімізацію шкідливого чинника і зниження інтенсивності ПОЛ при трансплантації МСК.

Таблиця 2

Показники перекисного окислення ліпідів і антиоксидантного статусу кардіоміоцитів при експериментальному інфаркті міокарда

Група	Вміст білків плазми		ТБК-активні продукти, мкмоль/л
	гаптоглобін, мг/дл	церулоплазмін, мг/дл	
Контроль	37±8	13,2±1,1	1,09±0,1
1-ша, $n = 20$	58±6*	15,5±4,1	2,81±0,8*
2-га, $n = 20$	59±4*	15,2±3,6	2,77±0,6*
3-тя, $n = 20$	47±3	24,3±2,8**	1,55±0,5
4-та, $n = 20$	50±11	21,5±3,1*	1,74±0,5
5-та, $n = 20$	52±7*	19,1±2,5*	1,88±0,7

* $p < 0,05$; ** $p < 0,001$. Те саме в табл. 3.

Дослідження оксидантної і антиоксидантної систем у тварин 2-ї групи показало, що рівень гаптоглобіну становив 59 ± 4 мг/дл, що набагато перевищувало норму ($t = 2,1$, $p < 0,05$). Концентрація церулоплазміну була в межах нормальних значень і дорівнювала $15,2 \pm 3,6$ мг/дл, а вміст ТБК-активних продуктів збільшувався до $2,77 \pm 0,6$ мкмоль/л. Таким чином, в 1-й і 2-й групах тварин превалювали процеси руйнування мембран клітин, що виявлялося підвищенням рівня гаптоглобіну і ТБК-активних продуктів із незмінним показником антиоксидантної системи – рівнем церулоплазміну.

У 3-й групі рівень гаптоглобіну істотно не відрізнявся від норми – 50 ± 11 і 52 ± 7 , як і сироваткова концентрація ТБК-активних продуктів – $1,74 \pm 0,5$ і $1,88 \pm 0,7$, при цьому рівень церулоплазміну підвищувався до $24,3 \pm 2,8$ мг/дл ($t = 3,7$, $p < 0,01$). У 4-й і 5-й групах спостерігалася аналогічна тенденція: гаптоглобін і ТБК-активні продукти були в нормі, а церулоплазмін підвищувався до $21,5 \pm 3,1$ і $19,1 \pm 2,5$ мг/дл відповідно ($t = 2,5$ і $2,2$; $p < 0,05$).

Ступінь пошкодження міокарда при інфаркті оцінювали за кардіоспецифічними ферментами: МВ-КК, АсТ і ЛДГ (табл. 3).

Так, уже через добу після припинення кровотоку виникало значне підвищення рівня МВ-КК

Таблиця 3

Біохімічні маркери метаболічної активності кардіоміоцитів при експериментальному інфаркті міокарда

Групи	Показник		
	МВ-КК, Од/л	АсТ, Од/л	ЛДГ, Од/л
Контроль	5125±123	150±22	780±11
1-ша, $n = 20$	7700±140*	273±15*	1071±25**
2-га, $n = 20$	7654±118*	275±12*	1123±22**
3-тя, $n = 20$	5381±112	265±17*	665±17
4-та, $n = 20$	5855,5±129**	262±28*	671±10
5-та, $n = 20$	5755,5±129	267±11*	669±11**

від 5125 ± 123 до 7700 ± 140 Од/л ($t = 13,8$; $p < 0,001$), що свідчить про формування великого осередку ушкодження. Значення МВ-КК були підвищені в усіх групах, крім 3-ї, в якій вміст ферменту не відрізнявся від норми. Значне збільшення концентрації МВ-КК відзначалося в 1-й і 2-й групах, причому істотних відмінностей між цими групами виявлено не було. Рівень МВ-КК у 4-й і 5-й групах дещо перевищував норму — $5855,5 \pm 129$ і $5755,5 \pm 129$ Од/л відповідно ($t = 4$ і $4,8$; $p < 0,01$).

Менш специфічним маркером об'єму ІМ виявлявся АсТ. Рівень цього ферменту в усіх досліджуваних групах був вищий за норму, що свідчить про некроз кардіоміоцитів. При аналізі концентрації показника серед груп тварин найвищі цифри були у 2-й групі, а найнижчі — у 4-й. У 2-й групі рівень АсТ підвищувався від 150 ± 22 до 275 ± 12 Од/л ($p < 0,05$), у 4-й групі цей показник дорівнював 262 ± 28 Од/л, що істотно не відрізнялося від показників 1-ї групи ($t = 0,35$; $p > 0,05$) і було значно вище норми ($t = 3,1$; $p < 0,01$).

Значення ЛДГ у групі з ІМ були значно вищими, ніж у групі здорових тварин: 1071 ± 25 і 780 ± 11 Од /л відповідно ($t = 10,7$; $p < 0,001$). У 4-й групі показник дорівнював 671 ± 10 Е/л, що було набагато нижче, ніж у групі тварин з ІМ ($t = 2,1$; $p < 0,05$). Рівні ЛДГ також значно відрізнялися між групами без використання МСК і групами з клітинною терапією. Так, у 2-й групі концентрація досліджуваного ферменту була вищою за норму і становила 1123 ± 22 Од/л ($t = 13,9$; $p < 0,001$). У 3-й групі зазначений показник був нижчий за норму і дорівнював 665 ± 17 Од/л ($t = 5,7$; $p < 0,05$).

Відомо, що основним активатором ангиогенезу при фізіологічних і патологічних станах є нестача кисню (гіпоксія або ішемія), що через активатор транскрипції факторів ангиогенезу — індукований гіпоксією фактор-1 (HIF-1) — запускає експресію багатьох ангиогенних факторів і перш за все — основного регулятора VEGF та його рецепторів. VEGF вибірково стимулює проліферацію та міграцію ендотеліальних клітин, їх попередників і моноцитів, що експресують рецептори до нього, збільшує судинну проникність, сприяючи пропотіванню білків плазми в навколосудинний простір, що необхідно для міграції ендотеліальних клітин. VEGF також прискорює експресію ендотеліальної NO-синтази та утворення NO, що сприяє вазодилатації і стимулює експресію протеаз, які руйнують зв'язок між ендотеліальними клітинами та позаклітинним матриксом, що необхідно для спрямованої міграції клітин. NO відповідає за ефект релаксуючого фактора, що виділяється ендотелієм. У відповідь на ішемічне ушкодження ендотелій судин виробляє амінопептиди, до яких належить ендотелін-1. Вважається, що вазодилаторну дію NO направлено проти вазоконстрикторного ефекту ендотеліну. Отримані нами результати дають змогу зробити висновок про зниження ступеня ішемії у тварин після трансплантації МСК [17].

Так, у результаті проведених досліджень було підтверджено існуючі знання про те, що розвиток ІМ супроводжується підвищенням ангиогенних факторів, таких як NO і VEGF. Це супроводжувалося підвищенням вмісту вазоконстриктора ендотеліну-1, який відіграє важливу роль у патогенезі ІМ. Слід зазначити, що підвищення ангиогенних і судинорелаксуючих факторів є компенсаторною реакцією організму на ішемічне ушкодження.

Отримані в ході експерименту дані свідчать, що трансплантація МСК (незалежно від способу введення) сприяла підвищенню вмісту ангиогенних факторів і нормалізації рівня ендотеліну-1, наслідком чого було нівелювання ішемії, поліпшення перфузії міокарда і, таким чином, ліквідація порочного кола при ІМ, тому що концентрація ангиогенних і судинозвужувальних факторів відіграє чільну роль у розповсюдженні ІМ і ремоделюванні ЛШ. Високий рівень VEGF у тварин після перенесеного ІМ на тлі трансплантації МСК є сприятливою прогностичною ознакою. Трансплантація МСК дає змогу цілеспрямовано змінити процеси ремоделювання міокарда, вплинути на його регенерацію і врешті-решт поліпшити функцію серцевого м'яза [16]. Отримані нами експериментальні дані свідчать про зниження ступеня ішемії міокарда після внутрішньовенної трансплантації МСК, що призводить до зниження рівня такого потужного вазоконстриктора, як ендотелін-1.

Накопичення ТБК-активних продуктів і компенсаторне підвищення вмісту церулоплазміну і гаптоглобіну при ІМ свідчить про зрив компенсаторних механізмів: під час формування великої зони інфаркту відбувається руйнування мембран кардіоміоцитів й активація ПОЛ, що відобразилося у підвищенні ТБК-активних продуктів, а трансплантація МСК викликала значне зниження концентрації ТБК-активних продуктів.

Під час вивчення рівня білків плазми з антиоксидантними властивостями встановлено, що при ІМ значуще підвищується рівень гаптоглобіну. У групі з трансплантацією МСК відзначено менш виражене підвищення досліджуваних показників, що, можливо, було пов'язано зі зменшенням альтерації міокарда, спричиненого ішемією. Отримані дані свідчать також про можливу активацію перекисного гемолізу еритроцитів, викликаного гіпоксією. Майже дворазове підвищення церулоплазміну в групі ІМ + трансплантація МСК свідчило про стимуляцію трансплантованими МСК факторів природних систем антиоксидантного захисту. Церулоплазмін захищає міокард від прооксидантної дії двовалентного заліза і, як наслідок, гальмує процеси ПОЛ. Таким чином, трансплантація МСК значно обмежує швидкість ПОЛ і знижує експресію антиоксидантних білків плазми крові.

Отримані дані свідчать, що при ІМ без лікування (1-ша група) і у 2-й групі відбувається переважання альтерації і, відповідно, активація оксидантної системи. Антиоксидантна ж система не встигає компенсувати руйнування і нейтралізува-

ти агенти катаболізму, що призводить до значного зростання коефіцієнта оксидантно-антиоксидантної системи. Клітинна кардіоміопластика значно стабілізує показники коефіцієнта оксидантно-антиоксидантної системи, що виявляється в значному його зниженні. При цьому найкращі результати були отримані нами в 3-й групі.

Установлено, що кардіоміопластика МСК викликає позитивний метаболічний ефект. Трансплантація МСК супроводжується зниженням активності ЛДГ у пошкодженому міокарді, що побічно свідчить про покращення енергетичного балансу, підвищення рівня енергодаючих субстратів і зниження ступеня ішемії міокарда. Зменшення накопичення продуктів ПОЛ і напруга неферментативної ланки антиоксидантного захисту є хорошими прогностичними критеріями відновлення функціональної активності пошкодженого міокарда.

Відомо, що при великому ІМ відбувається підвищення МВ-КК і АсТ, проте відносно розмірів некрозу МВ-КК є прогностично більш важливим фактором, а за рівнем АсТ можна тільки підтвердити наявність некрозу міокарда, що було доведено виконаними нами експериментальними дослідженнями. Було також встановлено, що у щурів після клітинної кардіоміопластики об'єм пошкодження серцевого м'яза був меншим, ніж у групах без лікування, про що свідчило зниження рівня МВ-КК.

Про рівень кисневого постачання кардіоміоцитів ми судили за активністю ЛДГ плазми кро-

ві. Захисні ефекти аденозину при ішемії показані в численних роботах. Зниження активності ЛДГ побічно свідчить про збільшення оксигенації міокарда і активації аеробних шляхів окислення енергодаючих субстратів. Стимуляція аденозином постсинаптичних А1-аденозинових рецепторів, локалізованих у пуринаргічних синапсах, що розташовані на клітинних мембранах скорочувальних кардіоміоцитів передсердь і шлуночків серця, сприяє зменшенню вмісту в них цАМФ і, отже, зниженню скоротливості серцевого м'яза, тобто реалізується негативна інотропна дія аденозину. Джерелом аденозину еритроцитів є катаболізм АМФ. Зниження активності ЛДГ після трансплантації МСК зберігає пул аденозину, що є хорошою прогностичною ознакою.

Таким чином, виходячи з аналізу отриманих експериментальних даних, можна припустити два основних напрямки метаболічної терапії МСК при ІМ: оптимізація процесів утворення і витрати енергії; нормалізація балансу між інтенсивністю вільнорадикального окислення і антиоксидантного захисту.

Клітинна кардіоміопластика (будь-яким методом) покращує метаболізм клітин, що підтверджує теорію неоангіогенезу і паракринного ефекту клітинної трансплантації. Отже, трансплантація МСК дає змогу оптимізувати обмін кисню у кардіоміоцитах і стабілізувати процеси аеробного та анаеробного гліколізу.

Список літератури

1. Біологічні маркери та їх застосування при серцевій недостатності. Консенсус Всеукраїнської асоціації кардіологів України, Всеукраїнської асоціації фахівців із серцевої недостатності та Української асоціації фахівців з невідкладної кардіології / Л. Г. Воронков та ін. // Укр. кардіологічний журн. 2019. № 26 (2). С. 19–30.
2. Никоненко А. С., Молодан А. В., Иващук В. А. Оценка деформационных свойств миокарда у больных ишемической болезнью сердца с выраженной дилатацией полости левого желудочка, осложненной сердечной недостаточностью // Вісн. серцево-судинної хірургії. 2015. С. 135–139.
3. Коронарне шунтування у хворих ІХС з хронічною серцевою недостатністю / А. В. Габріелян та ін. // Щорічник наукових праць Асоціації серцево-судинних хірургів України. Серцево-судинна хірургія. 2009. № 17. С. 103–107.
4. Heart failure: preventing disease and death worldwide / P. Ponikowski et al. // ESC Heart Failure. 2014. № 1 (1). Р. 4–25.
5. Implantable cardiac defibrillator and mortality in non-ischaemic cardiomyopathy: an updated meta-analysis / A. C. Alba et al. // Heart. 2018. № 104 (3). Р. 230–236. doi: <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2017-311430>
6. Nanayakkara S., Patel H. C., Kaye D. M. Hospitalisation in patients with heart failure with preserved ejection fraction // Clin. Med. Insights Car-
7. diol. 2018. № 12: Р. 1179–1189. doi: <https://doi.org/10.1177/1179546817751609>
8. Blair A. The use of left ventricular assist devices in end-stage heart failure // Crit. Care Nurs Q. 2018. № 41 (4). Р. 376–382. doi: <https://doi.org/10.1097/cnq.0000000000000223>
9. Very long-term follow-up data of non-ischemic idiopathic dilated cardiomyopathy after beta-blocker therapy: recurrence of left ventricular dysfunction and predictive value of 123I-metaiodobenzylguanidine scintigraphy / S. Nishimura et al. // Heart Vessels. 2018 Aug 24. URL: <http://doi: 10.1007/s00380-018-1245-y>
10. Kanda P., Davis D. Cellular mechanisms underlying cardiac engraftment of stem cells, expert opinion on biological therapy. URL: <http://dx.doi.org/10.1080/14712598.2017.1346080>. 03 Jul 2017
11. Джерела стовбурових клітин для лікування хворих з порушеною функцією скорочення міокарда / А. В. Габріелян, В. Й. Смержевський, Т. Н. Доманський, В. Ф. Оніщенко // Серце і судини. 2011. № 3 (35). С. 89–92.
12. Актуальні проблеми серцево-судинної хірургії / А. В. Габріелян та ін. // Тези доп. VII Південно-української наук.-практ. конф. «Сучасні проблеми

- атеросклерозу — від гіпотез до фактів». Одеса, 2012. 146 с.
13. Сучасні підходи та методики трансплантації стовбурих клітин хворим з термінальною стадією серцевої недостатності / А. В. Габріелян та ін. // Кардіохірургія та інтервенційна кардіологія. 2014. № 1 (6). С. 8–12.
 14. Габріелян А. В. Сучасні методи хірургічного лікування рефрактерної серцевої недостатності при ішемічній хворобі серця // Клінічна хірургія. 2014. № 1, 2. С. 52–55.
 15. Системное введение аутологичных мононуклеарных прекультивированных клеток костного мозга при сердечной недостаточности / А. У. Джолдасбекова и др. // Clinical Medicine of Kazakhstan. 2015. № 3 (37). С. 14–18.
 16. Голухова Е. З., Какучая Т. Т. Клеточная терапия в кардиологии и сердечно-сосудистой хирургии: обзор рандомизированных исследований. Реалии и перспективы // Креативная кардиология. 2007. № 1–2. С. 55–74.
 17. Гринь В. К., Михайличенко В. Ю. Патологические аспекты клеточной кардиомиопластики при экспериментальном инфаркте миокарда // Таврический медико-биологический вестн. 2012. Т. 15, № 3, ч. 1 (59). С. 81–84.

ВЛИЯНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ АНГИОГЕНЕЗА, СОСТОЯНИЕ СОСУДИСТОГО ТОНУСА, ИНТЕНСИВНОСТЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И МЕТАБОЛИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ИНФАРКТЕ МИОКАРДА

С. И. ЭСТРИН, Т. В. КРАВЧЕНКО, А. О. КОВАЛЬЧУК, Е. С. АКОБИРОВ

Представлены результаты экспериментального исследования эффективности лечения острого инфаркта миокарда путем кардиомиопластики: внутривенного, интракоронарного и интрамиокардиального введения аутологических мезенхимальных стволовых клеток костного мозга. Установлено улучшение метаболизма кардиомиоцитов за счет нормализации баланса между интенсивностью свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты.

Ключевые слова: кардиомиопластика, мезенхимальные стволовые клетки, инфаркт миокарда, миокардиальный метаболизм.

INFLUENCE OF MESENCHYMAL STEM CELLS ON EFFICIENCY OF ANGIOGENESIS, STATE OF VASCULAR TONE, INTENSITY OF LIPID PEROXIDATION AND METABOLIC ACTIVITY OF CARDIOMYOCYTES IN EXPERIMENTAL MYOCARDIAL INFARCTION

S. I. ESTRIN, T. V. KRAVCHENKO, A. O. KOVALCHUK, Ye. S. AKOBIROV

The results of an experimental study of the effectiveness of acute myocardial infarction treatment by cardiomyoplasty: intravenous, intracoronary and intramyocardial administration of autologous mesenchymal bone marrow stem cells have been presented. Improvement of cardiomyocyte metabolism due to normalization of the balance between the intensity of free radical oxidation and antioxidant protection has been established.

Key words: cardiomyoplasty, mesenchymal stem cells, myocardial infarction, myocardial metabolism.

Надійшла 23.10.2020